

PRODUKSI POLI- β -HIDROKSI BUTIRAT (PHB) PADA ISOLAT BAKTERI DARI MOLASSES DAN TANAH PABRIK GULA

Nur Haedar¹, Fahrudin¹, Firdaus Zenta², dan Nurlaela N.¹

1. Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Hasanuddin

2. Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Hasanuddin

ABSTRACT

The research about 'Production of poly- β -Hydroxy Butyrate (PHB) by the Bacteria Isolates from Molasses and Sugar Factory Land' was conducted as a purpose to determine the quantified of PHB production by bacteria isolates from molasses and sugar factory land. The research was carried out by cultivating the three isolates are A1 and A2 were isolated from the sugar factory land and TS2 were isolated from molasses, in PHB production medium, where all the three isolates have been known to accumulate PHB qualitatively. Incubation is carried out for 72 hours, then the bacteria cultures were centrifuged at 4000 rpm for 15 minutes, the supernatant was discarded and the pellets were formed suspended with 5 mL of aquadest. Then 1 mL of cell suspension was taken to measure the dry weight of the cell mass and 1 mL else was taken for analysis of PHB content by spectrophotometer-UV at a wavelength of 235 nm. The final result is obtained that isolate A2 from the sugar factory land have the ability to accumulate PHB is better than the other isolates, that is 14,79% by weight of the dry cell mass, while the isolate TS2 from molasses have the ability to accumulate PHB as much as 5,65% by weight of the dry cell mass and A1 has the ability to accumulate PHB as much as 5,65% by weight of the dry cell mass.

Keyword: Bacteria isolates, Molasses, Sugar factory land, Poly- β -Hydroxy Butyrate (PHB)

PENDAHULUAN

Plastik merupakan salah satu bahan yang banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari, baik untuk bahan kemasan, peralatan rumah tangga, dan lain-lain. Semakin meningkatnya kebutuhan akan bahan plastik ini mendorong industri untuk memproduksi plastik yang lebih banyak. Limbah plastik tergolong sampah yang tidak mudah didegradasi atau dihancurkan oleh mikroorganisme sehingga berpeluang mengendap lama di tanah. Limbah sampah plastik menjadi masalah serius yang dihadapi dunia, tidak hanya pada negara-negara maju tetapi juga negara berkembang seperti Indonesia (Delvia, 2006).

Salah satu solusi untuk penanganan limbah plastik ini adalah dengan

pengembangan plastik dari bahan-bahan yang dapat didegradasi oleh mikroorganisme di lingkungan. Bahan-bahan dasar pembuatan bioplastik tersebut banyak berasal dari bahan baku hasil pertanian seperti pati yang berasal dari singkong, jagung, dan sebagainya. Terdapat pula bioplastik yang dibuat melalui penumbuhan mikroorganisme tertentu dengan bahan baku yang dapat diperbaharui (*renewable-resources*) seperti penumbuhan bakteri *Ralstonia eutropha* dengan substrat hidrolisat minyak sawit dalam pembuatan poli- β -hidroksialkanoat (PHA) (Artianto, 2003).

PHA yang terkandung di dalam sel mikroorganisme jenis tertentu merupakan

bijih plastik alami (biopolimer). Biopolimer ini adalah cadangan makanan bagi mikroorganisme yang apabila tidak dikonsumsi akan menumpuk di dalam sel. Menurut Anderson dan Dawes (1990), poli- β -hidroksibutirat (PHB) adalah homopolimer dari asam- β -hidroksibutirat yang merupakan anggota dari PHA. Polimer PHB memiliki struktur yang mirip poli propilena (Lee, 1996).

Byrom (1987), Anderson dan Dawes (1990), melaporkan bahwa PHB merupakan polimer yang disintesis oleh bakteri dan diakumulasi secara intraselular sebagai sumber karbon dan energi jika ditumbuhkan pada media dengan sumber karbon berlebih tetapi nutrisi lainnya yaitu nitrogen atau fosfor terbatas. PHB bersifat termostabil, tidak larut air, dan dapat didegradasi secara biologis (*biodegradable*) sehingga sangat berpotensi untuk menggantikan plastik konvensional (Yanti, *et al.*, 2010).

Tanah dan *molasses* merupakan substrat yang memiliki kandungan nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan berbagai macam mikroorganisme termasuk bakteri. *Molasses* dan tanah yang berada di kawasan pabrik gula diasumsikan memiliki kandungan glukosa yang cukup banyak sehingga dapat dijadikan sebagai substrat bagi bakteri pengakumulasi PHB. Menurut Margino (2009), sejumlah bakteri amilolitik *Bacillus amiloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. amilolyticus*, *B. polymixa*, *Agrobacterium tumefaciens* dan genera yang lain mampu mengkonversi pati menjadi glukosa. Beberapa genera bakteri *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Micrococcus* dan *Pseudomonas* mampu memetabolisme glukosa menjadi bahan dasar plastik terdegradasi seperti poli laktat, poli hidroksialkanoat dan poli hidroksibutirat.

Untuk mengetahui jumlah senyawa PHB yang mampu dihasilkan oleh beberapa isolat bakteri dari *molasses* dan tanah pabrik gula, maka perlu dilakukan penelitian secara

kuantitatif mengenai produksi PHB dari beberapa isolat bakteri tersebut.

METODE PENELITIAN

III.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Erlenmeyer, tabung reaksi, tabung cuvet, gelas ukur, gelas kimia, corong, sendok tanduk, rak tabung, ose, bunsen, pipet tetes, spoit, sentrifugasi, oven, autoklaf, neraca analitik, inkubator, encas, hot plate, shaker, spektrofotometer UV.

III.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah beberapa isolat bakteri dari limbah tetes atau molasses dan tanah pabrik gula di Kabupaten Takalar, medium Nutrient Agar (NA) : {1 L akuades, 5 g bactopecton, 5 g ekstrak ragi dan 20 g bacto agar}, medium Nutrient Broth (NB) : {1 L akuades, 5 g bactopecton dan 5 g ekstrak ragi}, kapas, alkohol, kain kasa, aluminium foil, medium produksi PHB : {1,0 g (NH₄)₂SO₄, 6.7 g Na₂HPO₄·7H₂O, 1,0 g K₂HPO₄, 0,2 g MgSO₄·7H₂O, 60 mg Ferrous Ammonium Citrate, 10 mg CaCl₂·2H₂O, 1 mL trace element, 10 g glukosa dan 1 L akuades}, Sodium Hypochlorite, aseton, dietil eter, H₂SO₄ pekat, spiritus, akuades steril.

III.3 Cara Kerja

III.3.1 Sterilisasi Alat

Alat yang terbuat dari gelas atau kaca disterilkan dengan menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Sedangkan alat-alat yang terbuat dari logam misalnya ose dicuci dengan alkohol 70% kemudian dipijarkan di atas api bunsen sampai membara. Sterilisasi medium dengan menggunakan uap panas bertekanan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.3.2 Pembuatan Medium

A. Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA)

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan medium NA adalah 1 L akuades, 5 g bactopecton, 5 g ekstrak ragi dan 20 g bacto agar. Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan yang diperlukan kemudian dilarutkan dalam akuades kemudian dipanaskan hingga semua bahan larut. Selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

B. Pembuatan Medium Nutrient Broth (NB)

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan medium NB adalah 1 L akuades, 5 g bactopecton dan 5 g ekstrak ragi. Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan yang diperlukan kemudian dilarutkan dalam akuades kemudian dipanaskan hingga semua bahan larut. Selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

C. Pembuatan Medium Minimal Ramsay (Ramsay et al., 1992)

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan medium Minimal Ramsay adalah 1 g (NH₄)₂SO₄, 6,7 g Na₂HPO₄·7H₂O, 1 g K₂HPO₄, 0,2 g MgSO₄·7H₂O, 60 mg Ferrous Ammonium Citrate, 10 mg CaCl₂·2H₂O, 1 mL trace element, 10 g glukosa dan 1 L akuades. Semua bahan dicampurkan ke dalam akuades lalu dilarutkan dengan perlakuan pemanasan dan pengadukan. Lalu medium tersebut disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.3.3 Prosedur Penelitian

A. Peremajaan Kultur

Tiap isolat bakteri dari limbah tetes atau molasses dan tanah pabrik gula yang

terbaik dalam mengakumulasi poli-β-hidroksibutirat (PHB), ditumbuhkan pada medium Nutrient Agar (NA) miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sebagai stok kultur.

B. Persiapan Isolat

Tiap isolat yang telah diremajakan di medium NA, diambil sebanyak 1 ose dan disuspensikan ke dalam erlemeyer berisi 100 mL medium NB, kemudian diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam.

C. Produksi PHB (Yanti, et al., 2009)

Tiap inokulum bakteri yang telah dipersiapkan, diambil sebanyak 5% inokulum kemudian ditumbuhkan pada 100 mL medium untuk memproduksi PHB, lalu diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 72 jam pada suhu 30°C.

D. Ekstraksi (Yanti, et al., 2009)

Kultur bakteri yang telah diinkubasi selama 72 jam, disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Setelah itu, supernatan dibuang dan pelet yang terbentuk disuspensikan dengan 5 mL akuades. Kemudian 1 mL suspensi sel diambil untuk analisis kadar PHB dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 235 nm dan 1 mL suspensi sel diambil untuk mengukur berat kering massa sel.

1. Berat Kering Massa Sel

Aluminium foil dibuat seperti botol, lalu dikeringkan pada suhu 70°C selama 24 jam. Kemudian berat kering aluminium foil ditimbang hingga berat konstan, lalu ditambahkan 1 mL suspensi sel. Setelah itu, aluminium foil berisi 1 mL suspensi sel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 70°C selama 24 jam. Kemudian aluminium foil berisi suspensi sel yang telah dikeringkan ditimbang hingga berat konstan, lalu berat kering massa sel dihitung.

2. Analisis PHB

Suspensi sel diambil sebanyak 1 mL, lalu ditambahkan 3 ml buffer fosfat pH 7,0 dan 1 mL sodium hypochlorite atau NaOCl 5 %. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar dengan 180 rpm selama 24 jam. Sisa pelet kemudian dikumpulkan dengan sentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan pelet sel ditambahkan 5 mL akuades, lalu disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan pelet sel ditambahkan 3 mL aseton, lalu disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan pelet dicuci secara perlahan dengan 3 mL dietil eter, didiamkan selama 5 menit, kemudian eter dibuang. Setelah pellet kering ditambahkan 3 mL H₂SO₄ pekat, lalu dipanaskan dalam Water Bath dengan suhu 100°C selama 10 menit. Asam krotonat yang dihasilkan dideterminasi dengan spektrofotometer UV pada 235 nm dan H₂SO₄ sebagai blanko. Nilai Optical Density yang diperoleh diinterpolasi dengan kurva standar PHB murni. Konsentrasi asam krotonat ditentukan berdasarkan kurva standar yang dibuat.

3. Pembuatan Kurva Standar PHB

Senyawa PHB murni dengan variasi konsentrasi 0 µg, 0,4 µg, 0,8 µg, 1,6 µg, 3,2 µg, 4,8 µg dan 6,4 µg masing-masing dimasukkan ke dalam cuvet berisi 1 mL H₂SO₄ pekat. Cuvet dididihkan di dalam Water Bath dengan suhu 100°C selama 10 menit, lalu dimasukkan ke dalam spektrofotometer UV untuk diukur Optical Density (OD) atau absorbannya. Kurva dibuat berdasarkan hasil pengukuran OD dari tiap-tiap konsentrasi PHB.

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Pemilihan Isolat

Poli-β-hidroksibutirat merupakan massa polimer molekuler tinggi yang

terakumulasi dalam granula khusus di dalam sitoplasma pada beberapa jenis bakteri dan arkaebakteri (Byrom, 1987; Reusch, 1992). PHB diproduksi oleh beberapa jenis bakteri secara intraseluler pada kondisi substrat pertumbuhan tidak seimbang, yaitu ketika nitrogen, fosfor, atau oksigen terbatas tetapi sumber karbon berlebih dan terakumulasi di dalam sel dalam bentuk granula intraseluler (Anderson dan Dawes, 1990 dalam Yanti et al., 2010).

Oleh karena itu, isolat yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri A1 dan A2 yang diisolasi dari tanah pabrik gula serta isolat bakteri TS2 yang diisolasi dari limbah tetes atau *molasses*, dimana berdasarkan penelitian sebelumnya dianggap paling berpotensi dalam memproduksi senyawa PHB dibanding isolat lainnya yang diisolasi dari limbah pabrik gula. Menurut Khaerah (2012), isolat yang berpotensi dalam mengakumulasi senyawa PHB secara intraseluler dapat diketahui melalui dua tahapan pengujian yaitu pewarnaan koloni dan pewarnaan granula dengan reagen *Suddan Black*.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Khaerah (2012), seperti yang terlihat pada Gambar 3, isolat yang memiliki kemampuan menyerap *Suddan Black* paling besar pada pewarnaan granula adalah isolat A2 yang terlihat dari warna granulanya yang lebih hitam/gelap, kemudian TS2 warna granulanya sedikit gelap dan A1 yang memiliki granula berwarna abu-abu. Hal ini menunjukkan bahwa granula PHB yang dihasilkan oleh A2 lebih banyak dibanding TS2 dan A1. Meskipun demikian, ketiga isolat tersebut menunjukkan kemampuan mengakumulasi PHB secara kualitatif yang lebih baik dibandingkan isolat lainnya berdasarkan pewarnaan koloni dan pewarnaan granula.



(a) (b) (c)

Gambar 3. Pewarnaan granula pada isolat bakteri (a) A2, (b) TS2, dan (c) A1

IV.2 Kemampuan Isolat Menghasilkan PHB secara Kuantitatif

Dalam penelitian ini isolat A1, A2, dan TS2 diinokulasikan pada suatu medium produksi PHB yaitu medium minimal Ramsay. Ramsay, et al.(1990) menjelaskan bahwa kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan PHB secara kuantitatif dapat dilihat berdasarkan produksi PHB pada medium minimal Ramsay. Medium ini diperkaya dengan glukosa yang merupakan sumber karbon bagi isolat bakteri yang diinokulasikan di dalamnya, sehingga bakteri dapat membentuk cadangan karbon berupa granula PHB. Ketiga isolat tersebut ternyata memperlihatkan pertumbuhan yang cukup baik pada medium Ramsay. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4, dimana terdapat perubahan warna medium menjadi keruh setelah penambahan inokulum dan diinkubasi selama 72 jam yang berarti terdapat aktivitas atau pertumbuhan bakteri di dalamnya.



(a) (b) (c) (d)

Gambar 4. Perubahan medium minimal Ramsay. (a) sebelum diinokulasikan sampel, (b) setelah penambahan inokulum A1, (c) setelah penambahan inokulum A2, dan (d) setelah penambahan inokulum TS2

Dalam penelitian ini juga dilakukan pengukuran berat kering massa sel sebelum inkubasi dan setelah inkubasi selama 72

jam. Selama inkubasi terjadi peningkatan berat kering massa sel yang ditunjukkan oleh semua isolat seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Perbandingan Berat Kering Massa Sel

Kode Isolat	Berat Kering Massa Sel (mg)		Kenaikan Berat Kering Massa Sel (Kali)
	Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi 72 jam	
A1	0.03	1.94	63.6
A2	0.04	1.29	31.2
TS2	0.02	3.69	183.5

Isolat A1 sebelum inkubasi memiliki berat kering massa sel 0,03 mg dan setelah inkubasi selama 72 jam mengalami peningkatan menjadi 1,94 mg. Hal yang sama juga ditunjukkan oleh isolat A2 dan TS2. Berat kering massa sel pada isolat A2 mengalami peningkatan dari 0,04 mg menjadi 1,29 mg. Sedangkan isolat TS2 juga mengalami peningkatan dari 0,02 mg menjadi 3,69 mg. Peningkatan berat kering massa sel tertinggi berturut-turut ditunjukkan oleh isolat TS2 (183,5 kali), A1 (63,6 kali), dan A2 (31,2 kali). Hal ini menunjukkan bahwa terjadi pertumbuhan sel bakteri setelah inkubasi 72 jam yang ditandai dengan adanya penambahan berat kering massa sel.

Selain itu, dilakukan analisis dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari kurva standar PHB untuk mengetahui jumlah PHB yang diproduksi isolat bakteri tersebut. Pada penelitian ini, dilakukan perhitungan jumlah PHB sebelum inkubasi dan setelah inkubasi selama 72 jam. Jumlah PHB diperoleh melalui penentuan absorbansi dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 235 nm, panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang maksimum untuk mengukur konsentrasi PHB. Selanjutnya dilakukan perhitungan konsentrasi PHB dengan rumus regresi linear dari kurva standar PHB, kemudian menentukan jumlah PHB dalam medium.

Seerti yang ditunjukkan pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa terdapat penambahan

jumlah PHB yang cukup signifikan setelah inkubasi selama 72 jam. Pertambahan jumlah PHB ini ditunjukkan oleh semua isolat.

Tabel 4. Jumlah PHB yang diproduksi dalam medium minimal Ramsay

Kode Isolat	Jumlah PHB (mg/mL)		Kenaikan Jumlah PHB (Kali)
	Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi 72 jam	
A1	0.00072	0.287	397.6
A2	0.00082	0.073	88
TS2	0.00084	0.642	763.2

Pada isolat A1 diperoleh PHB sebanyak 0,00072 mg/mL sebelum inkubasi sedangkan setelah inkubasi bertambah menjadi 0,287 mg/mL. Hal ini terjadi pula pada isolat A2 dan TS2 dimana sebelum inkubasi diperoleh PHB sebanyak 0,00082 mg/ml sedangkan setelah inkubasi mengalami pertambahan jumlah PHB menjadi 0,073 mg/mL untuk A2, sedangkan TS2 mengalami pertambahan jumlah PHB dari 0,00084 mg/mL menjadi 0,642 mg/mL. Pertambahan jumlah PHB yang paling banyak berturut-turut yaitu pada isolat TS2 sebanyak 763,2 kali, kemudian A1 yang mengalami kenaikan jumlah PHB sebanyak 397,6 kali dan A2 sebanyak 88 kali. Hal ini menunjukkan bahwa selain pertambahan berat kering sel, pertumbuhan sel bakteri juga menentukan peningkatan jumlah PHB yang diakumulasi oleh bakteri.

IV.3 Analisis Kadar PHB

Kadar PHB yang dihasilkan oleh isolat bakteri dihitung dengan cara membandingkan jumlah PHB dalam medium (Lampiran 6 dan 7) dengan berat kering massa sel. Kadar PHB ini juga dihitung sebelum dan setelah inkubasi selama 72 jam.

Tabel 5. Perbandingan Kadar PHB

Kode Isolat	Kadar PHB (%)		Kenaikan Kadar PHB (Kali)
	Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi 72 jam	
A1	2.4	5.65	1.3
A2	2.05	14.79	6.2
TS2	4.2	5.65	0.3

Seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5, semua isolat bakteri menunjukkan perubahan kadar PHB yang dapat diakumulasi setelah inkubasi selama 72 jam. Isolat A1 mengakumulasi PHB sebesar 2,4% kemudian bertambah menjadi 5,65% setelah inkubasi. Sebelum inkubasi isolat A2 mengakumulasi PHB sebanyak 2,05%, namun setelah inkubasi bertambah menjadi 14,79%. Hal yang sama terjadi pada isolat TS2 dimana sebelum inkubasi diperoleh kadar PHB sebesar 4,2% dan setelah inkubasi selama 72 jam, terjadi perubahan kadar PHB menjadi 5,65%. Isolat A2 memiliki kadar PHB lebih banyak dibanding isolat lainnya. Berbeda dengan sebelumnya dimana berdasarkan perhitungan berat kering dan jumlah PHB dalam medium, diperoleh hasil bahwa isolat TS2 lebih baik dibanding isolat A1 dan A2. Kadar PHB merupakan hasil perbandingan antara jumlah PHB dalam medium dengan berat kering massa sel, sehingga diperoleh hasil bahwa isolat A2 lebih unggul dibanding isolat A1 dan TS2. Perubahan kadar PHB cukup signifikan terutama untuk isolat A2 yaitu sebanyak 6,2 kali, sedangkan isolat A1 sebanyak 1,3 kali dan TS2 meningkat sebanyak 0,3 kali.

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Yanti, *et al.* (2010) dapat diketahui bahwa terdapat banyak bakteri yang berpotensi dalam mensintesis senyawa PHB. PHB yang diproduksi oleh 50 isolat terpilih setelah 72 jam berkisar antara 0,23% - 52,28%, dimana dalam produksinya menggunakan sumber karbon yang berbeda yaitu pati sagu. Sedangkan Young *et al.* (1994) melaporkan bahwa *P. cepacia* dapat menghasilkan sekitar 50% dari berat kering selnya dengan menggunakan substrat silosa dan laktosa. Supriyati (2011) juga melaporkan bahwa *Microbacterium xylanilyticum* L6 memiliki kadar PHB dalam total biomasnya, tertinggi dapat dicapai yaitu sebesar 23,12% pada medium dengan

sumber karbon natrium asetat, 22,79% pada medium dengan sumber karbon glukosa, dan 21,2% pada medium dengan sumber karbon sukrosa.

Pada penelitian ini diperoleh hasil bahwa pertambahan berat kering massa sel pada isolat A1, A2 dan TS2 diikuti dengan pertambahan jumlah dan kadar senyawa PHB yang dapat diakumulasi oleh isolat bakteri tersebut. Hal ini ditunjukkan oleh semua isolat bakteri tetapi hasil yang paling tinggi ditunjukkan oleh isolat A2. Isolat A2 yang berasal dari tanah pabrik gula dapat mengakumulasi senyawa PHB paling banyak dibandingkan isolat A1 dan isolat TS2. Ini sesuai dengan hasil uji kualitatif yang menunjukkan bahwa isolat A2 memiliki granula PHB yang lebih banyak karena mampu menyerap reagen *Suddan Black* yang lebih baik dibandingkan isolat TS2 dan A1 pada pewarnaan koloni dan granula. Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa hasil uji kuantitatif suatu bakteri penghasil senyawa PHB sebanding dengan hasil uji kualitatifnya.

Tempat hidup atau tumbuhnya suatu bakteri sangat menentukan senyawa yang dapat dihasilkan oleh bakteri tersebut. Toharisman (1991) menyatakan bahwa limbah tetes atau *molasses* merupakan gula yang tidak berhasil diekstraksi dari tebu pada saat proses ekstraksi yang diyakini masih mengandung banyak unsur gula didalamnya (Mardani, 2008). Bakteri dapat hidup dalam limbah tetes atau *molasses* dan dapat pula membentuk granula PHB yang merupakan cadangan karbon bagi bakteri karena mengandung banyak sumber karbon sedangkan nutrisi lainnya terbatas.

Tanah merupakan tempat tumbuh berbagai jenis mikroorganisme termasuk bakteri, terlebih karena tanah tersebut berada di lingkungan pabrik gula sehingga memiliki jumlah karbon yang cukup untuk pertumbuhan bakteri bahkan berlebih sehingga memicu bakteri untuk membentuk

granula PHB sebagai cadangan karbon bagi bakteri tersebut. Oleh karena itu, tidak mengherankan jika bakteri yang diisolasi dari tanah pabrik gula dapat mengakumulasi senyawa PHB yang cukup banyak seperti pada isolat bakteri A2. Lingkungan tempat tumbuh bakteri yang kaya akan sumber karbon tetapi mengandung fosfat dan nitrogen yang terbatas akan memicu suatu bakteri membentuk cadangan karbon berupa senyawa PHB yang terbentuk di dalam granula PHB. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Byrom (1987) bahwa senyawa PHB akan disintesis dan diakumulasi oleh sel apabila medium banyak mengandung sumber karbon tetapi mengandung fosfat dan nitrogen yang terbatas (Margino *et al.*, 2000).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa isolat A2 dari tanah pabrik gula memiliki kemampuan mengakumulasi PHB lebih baik dibandingkan dua isolat lainnya yaitu sebanyak 14,79% per berat kering massa selnya, sedangkan isolat TS2 dari limbah tetes dan A1 dari tanah pabrik gula yang dapat mengakumulasi PHB sebanyak 5,65% per berat kering massa selnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson AJ dan Dawes E. A. 1990. **Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates.** Microbiol. Rev. 54(4):450-472.
- Artianto, S. 2003. **Kajian Biodegradasi Bioplastik Poli- β -Hidroksialkanoat dengan Penambahan Pemlastis Dimetil Ftalat dan Dimetil Glikol dalam Media Padat Buatan.** Skripsi. Jurusan Teknologi Industri Pertanian,

- Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Delvia, V. 2006. **Kajian Pengaruh Penambahan Dietilen Glikol Sebagai Pemplastis pada Karakteristik Bioplastik dari Poli- β -hidroksialkanoat (PHA) yang Dihasilkan *Ralstonia Eutropha* pada Substrat Hidrolisat Pati Sagu.** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Herawati, T. 2001. **Kemampuan Kualitatif Hidrolisis Polihidroksibutirat (PHB) dari Beberapa Galur *Bradyrhizobium japonicum*.** Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB, Bogor.
- Khaerah, A. 2012. **Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Poly-B-Hidroksi Butirat (PHB) dari Limbah Pabrik Gula.** Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Kulpreecha, S., Mutitakul, R. dan Shioya, S. 1997. **The Optimal Condition for Poly (Hydroxybutyrate) Production from *Bacillus sp.* BA-019.** Annual Reports of IC Biotechnology, 20: 765-774.
- Kumaravel, S., R. Hema dan R. Lakshmi. 2010. **Production of Polyhydroxybutyrate (Bioplastic) and its Biodegradation by *Pseudomonas Lemoignei* and *Aspergillus Niger*.** E-Journal of Chemistry, 2010, 7(S1), S536-S542.
- Lee, S.Y. 1996. **Bacterial Polyhydroxyalkanoates.** *Biotechnol. Bioeng.* 49 : 1 - 14.
- Lumbanraja, E. R. 2007. **Karakterisasi Bioplastik Polihidroksialkanoat (PHA) dengan Penambahan Polioksietilen-(20)-Sorbitan Monolaurat sebagai Pemplastis.** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Mardani, D. Y. 2008. **Pemanfaatan Limbah Industri Gula untuk Meningkatkan Produksi Kedelai (*Glycine Max*) pada Tanah Mediteran (Typic Hapludalf) di Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta.** Fakultas Pertanian Institut Pertanian (INTAN), Yogyakarta.
- Margianto, H. 2010. **Inilah Bahaya Kantong Plastik.** <http://kompas.com>. 17 Oktober 2010.
- Margino, S. 2009. **Pengembangan Pati Sagu Indonesia: Kajian Kerusakan dan Pemanfaatan Untuk Produksi Bioplastik.** Laporan Akhir Hasil Penelitian Hibah Pascasarjana. Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada.
- Martani, E., L. E. Handajani dan S. Hartadi, 1999. **Production of Poly- β -Hydroxybutyric Acid (PHB) as Raw Material for Degradable Bioplastic by *Alcaligenes sp.* Grown in *Amylum* Substrate.** Gadjah Mada University. Yogyakarta.
- Mohammad, A. 2011. **Identifikasi Dampak Penggunaan Plastik Oxo-Degradable terhadap Lingkungan.** <http://achormohammad.blogspot.com>. 10 November 2011.

- Rais, D. 2007. **Pengaruh Konsentrasi PEG 400 Terhadap Karakteristik Bioplastik Polihidroksialkanoat (PHA) Yang Dihasilkan Oleh *Ralstonia eutropha* Menggunakan Substrat Hidrolisat Pati Sagu.** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.
- Ramsay, B.A., Lomaliza, K., Chavarie, C., Dube, B., Bataille, P. and Ramsay, J.A. 1990. **Production of Poly-(β -Hydroxybutyric-Co- β -Hydroxyvaleric) Acids.** *Applied and Environmental Microbiology*, **56** (7) : 2093-2098.
- Setiawan, A. 2011. **Co-composting bagasse dengan sludge limbah industri gula menggunakan teknik aerasi dan pengaruhnya terhadap nilai c/n.** IPB, Bogor.
- Simanjuntak, R. 2009. **Studi Pembuatan Etanol dari Limbah Gula (Molase).** Skripsi. Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.
- Supriyati, D. 2011. **Produksi PHB (Polyhydroxybutirate) dari Bakteri Laut *Microbacterium xylanilyticum* L6 pada Media Air Laut dengan Sumber Karbon Sukrosa, Glukosa, dan Na Asetat.** Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus: SF (45-49), 2011.
- Yanti, N.A., Sembiring, L. dan Margino, S. 2009. **Production of Poly- β -Hydroxybutyrate (PHB) from Sago Starch by The Native Isolate *Bacillus megaterium* PSA10.** Indonesian Journal of Biotechnology, June, 2009.
- Yanti, N.A., Sembiring, L. dan Margino, S. 2009. Yuksekdag, Z.N., Aslim, B., Beyatli, Y. dan Mercan, N. 2004. **Effect of Carbon and Nitrogen Sources and Incubation Times on Poly-Beta-hydroxybutyrate (PHB) Synthesis by *Bacillus subtilis* 25 and *Bacillus megaterium* 12.** African J. Biotechnology, 3 (1): 63–66.
- Yanti, N.A., Sembiring, L. dan Margino, S. 2010. **Optimasi Produksi Poli- β -Hidroksibutirat (PHB) oleh *Bacillus sp.* PSA10.** Biota Vol. 15 (3): 331-339, Oktober, 2010.